

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON
ZIRKADIANEN RHYTHMEN UND HISTAMIN H_2 - ANTAGONISTEN
AUF AUSLÖSUNG UND VERLAUF DER ALLERGISCHEN
KONTAKTDERMATITIS BEIM MEERSCHWEINCHEN

THOMAS MAYR

Diss
München
1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554009_0072

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der
Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON ZIRKADIANEN
RHYTHMEN UND HISTAMIN H_2 - ANTAGONISTEN AUF AUS-
LÖSUNG UND VERLAUF DER ALLERGISCHEN KONTAKTDER-
MATITIS BEIM MEERSCHWEINCHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Thomas Mayr

aus

Aichach

1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Prof. Dr. med. Dr. phil. J. Ring

Mitberichterstatter : Prof. Dr. med. Dr. med. h. c.
O. Braun-Falco

Dekan : Prof. Dr. W. Spann

Tag d. mündl. Prüfung: 4.10.1984

Meiner Frau und meinen Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG

1. Geschichtlicher Überblick
2. Immunologische Vorgänge bei der Kontaktallergie
3. Problemstellung

B. MATERIAL UND METHODIK

1. Versuchstiere
 - 1.1 Art, Haltung und Markierung der Tiere
 - 1.2 Sensibilisierung
 - 1.3 Auslösung der Kontaktdermatitis (Challenge)
 - 1.4 Ablesung der Reaktion
 - 1.5 Entnahme und Verarbeitung der Gewebeproben zur Histaminbestimmung
2. Reagenzien
 - 2.1 Dinitrochlorbenzol (DNCB)
 - 2.2 Cimetidin
3. Statistik

C. ERGEBNISSE

1. Streuung der Messwerte beim Verlauf des allergischen Kontaktekzems
 - 1.1 Reaktion ohne Medikation
 - 1.2 Reaktion nach Behandlung mit H_2 -Antagonisten
2. Zirkadiane Einflüsse auf die Auslösungsphase (Challenge)
 - 2.1 Reaktion ohne Medikation

- 2.2 Reaktion nach Behandlung mit H_2 -Antagonisten
- 3. Einfluß von zirkadianen Rhythmen auf die Sensibilisierungsphase
 - 3.1 Reaktion ohne Medikation
 - 3.2 Reaktion nach Behandlung mit H_2 -Antagonisten
- 4. Histamingehalt der Gewebeproben
 - 4.1 Gewebshistaminspiegel während des Verlaufs der allergischen Kontaktdermatitis
 - 4.2 Tageszeitliche Abhängigkeit der Histaminkonzentration in der Haut

D. DISKUSSION

- 1. Biorhythmen und allergische Kontaktdermatitis
- 2. Histamin und Histamin H_2 -Antagonisten in der Entwicklung der allergischen Kontaktdermatitis

E. ZUSAMMENFASSUNG

F. LITERATURVERZEICHNIS

G. ANHANG

- 1. Danksagung
- 2. Lebenslauf

A. EINLEITUNG

1. Geschichtlicher Überblick

Die erste Epikutanbestimmung zur Aufklärung einer Kontaktdermatitis wurde von J. Jadassohn 1895 beschrieben (39). Er stellte bei einem Patienten eine lokalisierte Disposition der Haut zu ekzematöser Reaktion gegenüber Quecksilber fest. Diese anomale Reaktion wurde als Idiosynkrasie bezeichnet (39).

Der Terminus Allergie wurde erstmals 1906 von C. von Pirquet definiert (59). Er verstand darunter eine veränderte Reaktionsfähigkeit, d.h. sowohl eine Über-, als auch eine Unterempfindlichkeit. Heute bezeichnet man als Allergie "eine spezifische Änderung der Immunitätslage im Sinne einer krankmachenden Überempfindlichkeit" (Ring, 1982) (66).

1911 arbeitete Bloch (2) Jadassohns Läppchenprobe weiter aus. Die zu testende Substanz wurde hierbei in nicht toxischer Verdünnung auf ein Leinenläppchen aufgebracht und auf der Haut des Patienten fixiert. Nach einer Expositionszeit von 24-48 Stunden wurde die Hautreaktion beurteilt.

Eine intensive Erforschung des Phänomens der allergischen Kontaktdermatitis wurde seit 1930 durch die Einführung eines geeigneten Tiermodells ermöglicht. Bloch, Steiner-Womlisch (13) und Jadassohn sensibilisierten Meerschweinchen mit Extrakten aus der *Primula obconica* und zeigten, daß die entstehenden Hautreaktionen makroskopisch und histologisch dem allergischen Ekzem des Menschen sehr ähnlich waren.

1963 klassifizierten Coombs und Gell (22) vier verschiedene Typen von pathogenen Immunreaktionen:

- I) Anaphylaktische Reaktion
- II) Cytotoxische Reaktion
- III) Arthus- oder Immunkomplex-Reaktion
- IV) Spättypreaktion (zelluläre Überempfindlichkeit)

Typ I - III sind antikörpervermittelt (humorale Allergie), Typ IV verläuft zellvermittelt (lymphozytäre Allergie). Zu den Spätreaktionen gehören bakterielle Allergien (Tuberkulin-Typ), Transplantationsabstoßungen, Autoimmunerkrankungen und die Kontaktallergie. Sie erreichen ihren Gipfel 48-72 Stunden (beim Meerschweinchen 24-48 Std.) nach Exposition.

2. Immunologische Vorgänge bei der Kontaktallergie

Vom ersten Kontakt des Organismus mit dem Allergen bis zum Entstehen des Kontaktekzems laufen folgende Prozesse ab (60):

a) Sensibilisierung (Induktionsphase, Primärantwort)

Niedermolekulare Haptene durchdringen die Haut, binden sich kovalent an Proteine und bilden so das Vollantigen. Unter Mitwirkung von Langerhanszellen und/oder Makrophagen kommt es zur Aktivierung von T-Lymphozyten. Stimulierte T-Lymphozyten wandern durch afferente Lymphbahnen in den regionalen Lymphknoten. Im paracorticalen Gebiet (thymusabhängig) differenzieren sie sich über Immunoblasten zu "Effektor"- und "Memory"-Zellen, wobei der Lymphknoten an Größe und Gewicht zunimmt. Diese Lymphozyten zirkulieren dann ab dem 6. Tag in der Peripherie, die Größe des Lymphknotens nimmt wieder ab. Die "Memory"-Zellen rezirkulieren zwischen den paracorticalen Gebieten der Lymphknoten, der Milz und den Lymphbahnen. Bei erneutem Allergenkontakt proliferieren sie und differenzieren sich rapid zu einer neuen Generation von sensibilisierten Lymphozyten (Booster-Effekt). Selbst setzen die "Memory"-Zellen keine Mediatoren der Kontaktreaktion frei. Die "Effektor"-Zellen zirkulieren hauptsächlich im Blut. Bei Allergenkontakt setzen sie lösliche Mediatoren frei und sind verantwortlich für das Auftreten von spontanen "flare-up"-Reaktionen. Hierbei kommt es an der Sensibilisierungsstelle zu Hauteffloreszenzen durch die Reaktion zwischen Effektorzellen und in der Haut verbliebenem Antigen. Beim Meerschweinchen können "flare-up"-Reaktionen nach 6-8 Tagen auftreten. Die Sensibilisierungsphase ist zu diesem Zeitpunkt abgeschlossen.

b) Auslösungsphase (Challenge)

Das Antigen oder Hapten wird erneut auf die Haut des sen-

sibilisierten Individuums appliziert. Nachdem es wie bei der Sensibilisierungsphase die Haut penetriert hat, kommt es in Kontakt mit den im Blut kreisenden Effektorzellen. Nach Bindung des Antigens an die Lymphozytenoberfläche kommt es durch Zellmembranveränderungen zur Ausschüttung von Lymphokinen (dabei können auch B-Lymphozyten, Makrophagen und Granulozyten beteiligt sein). Entscheidend ist aber die Anwesenheit von sensibilisierten T-Lymphozyten.

Die Lymphokine bewirken u.a.:

- Anziehung von mononuklearen Zellen
- Retention und Proliferation der Zellen im Infiltrat
- Erhöhung der Gefäßpermeabilität
- Gewebsschädigung

Als weitere mögliche Mediatoren kommen auch in Betracht:

- Vasoaktive Amine
- Kinine
- Serotonin
- Prostaglandine
- Leukotriene

Auf Grund dieser verschiedenen Reaktionsfaktoren kommt es nach 24-48 Stunden zum entzündlichen Infiltrat und zu Gewebsläsionen. Mit der Einwanderung von Monozyten setzt die Heilungsphase ein. Die Reaktionen bilden sich in den darauffolgenden Tagen zurück.

Während man lange Zeit der Ansicht war, daß vasoaktive Amine nicht als Mediatoren der Kontaktdermatitis in Frage kommen, mehren sich heute die Anzeichen dafür, daß Gewebshormone wie Histamin bei Vorgängen mit entzündlicher Komponente, also auch bei der allergischen Dermatitis, eine Rolle spielen könnten (4, 31, 61, 70).

Ein wichtiger Schritt zur Erforschung von Histamineffekten

war die Entwicklung von spezifischen H_1 - und H_2 -Antagonisten. Hiermit wurde eine selektive Beeinflussung eines durch H_2 -Rezeptoren vermittelten Regelkreises möglich.

In früheren Untersuchungen aus unserer Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, daß im Verlauf einer allergischen Kontaktdermatitis die Histaminkonzentration im Gewebe steigt (Grimm, 34).

In einer weiteren Arbeit zur Problematik der Interpretation von allergischen Kontaktreaktionen wurden verschiedene Parameter untersucht (Schmid 74). Dabei blieb die Frage nach tageszeitlichen Schwankungen noch unberücksichtigt.

Tatsächlich beeinflussen aber Biorhythmen in hohem Maße auch immunologische Reaktionen (13a, 38, 63).

Von besonderem Interesse war die Entdeckung, daß Histamin im Intrakutantest am Menschen zu verschiedenen Tageszeiten unterschiedliche Reaktionen bewirkt. Nachts wiesen Untersuchungspersonen die größte Reaktionsbereitschaft auf (55). Es stellt sich die Frage, ob solche zirkadianen Schwankungen auch für die Kontaktallergie von Bedeutung sind.

3. Problemstellung und Ziel der vorliegenden Arbeit

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Erforschung der Kontaktdermatitis am Meerschweinchen. Es wurde untersucht, ob biorhythmische Gesetzmäßigkeiten beim Reaktionsverlauf erkennbar sind.

Hierzu wurden Gruppen von Meerschweinchen zu unterschiedlichen Tageszeiten sensibilisiert. Auch die Auslösung der kontaktallergischen Reaktion wurde zu verschiedenen Tageszeiten vorgenommen. Damit soll ein Beitrag zur besseren Vergleichbarkeit und auch Reproduzierbarkeit von Epikutantestergebnissen geleistet werden.

Der Einfluß von Cimetidin, einem Histamin- H_2 -Rezeptorenblocker, wurde im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen untersucht. Dadurch sollen Rückschlüsse auf den möglichen Einfluß von Histamin als Regulativ der Kontaktdermatitis gezogen werden. Diese Untersuchungen wurden ergänzt durch eine Bestimmung des Gewebshistaminspiegels von Proben aus dem Testareal und einem Histamintagesprofil aus Kontrollhaut.

B. MATERIAL UND METHODIK

Die Versuche wurden in der Zeit von August 1979 bis Dezember 1982 in der Dermatologischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München (Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco) durchgeführt.

1. Versuchstiere

1.1 Art und Haltung

Für unsere Experimente verwendeten wir Albinomeerschweinchen, die klassischen Versuchstiere für Studien zur allergischen Kontaktdermatitis (7, 8, 20, 24, 27, 30, 41, 45, 49, 50, 51, 60, 72, 76).

Um vergleichbare, aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten (36, 43, 79), wurden nur durch Inzucht und Selektion in der hauseigenen Tierzucht entwickelte Tiere den Versuchen unterzogen. Wir wählten Tiere mit einem Alter von ca. 2 Monaten und einem Körpergewicht von ca. 400 g aus. Sie sind besser sensibilisierbar als neugeborene (73) oder erwachsene (6) Tiere. Alle Meerschweinchen waren frei von Erkrankungen und befanden sich in einem guten Allgemeinzustand.

Sie wurden in Gruppen zu je 5 Tieren aufgeteilt und jede Gruppe in einem ausreichend großen Käfig untergebracht. Sie konnten sich so 2-3 Wochen vor Versuchsbeginn an die neuen Umweltbedingungen gewöhnen und eine soziale Rangordnung ausbilden. Unsere Maßnahmen sollten Stresssituationen vermeiden, die durch innersekretorische Veränderung für die allergische Reaktion verantwortliche Zellen beeinflussen (65) und zur Veränderung des Ausfalls von Hautreaktionen führen (57).

Ernährt wurden die Tiere mit Futterpellets, die alle Kombi-

nationen einer vollwertigen Nahrung enthielten, frischem Salat, Karotten und Wasser ad libitum. Eine Einschränkung der Sensibilisierbarkeit durch Unterernährung (25), Vitaminmangel (28, 77) oder Hypervitaminosen (78, 80) wurde auf diese Weise verhindert. Besonders wichtig für unsere chronobiologischen Untersuchungen war eine Standardisierung der Umweltbedingungen. Die Temperatur in den beheizten Räumen lag im Mittel bei 22°C und war nur geringen Schwankungen unterworfen. Durch die Fenster des Tierstalles war Tageslichteinfall gegeben, eine direkte Sonneneinstrahlung war jedoch nicht möglich. Denkbare jahreszeitliche Schwankungen der Sensibilisierbarkeit (38, 47, 54, 69) durch Umwelteinflüsse (49) konnten dadurch zwar reduziert, aber nicht ganz ausgeschlossen werden. Deshalb führten wir alle Versuche im Sommer bei gleichbleibenden Klimaverhältnissen durch. Nur der 1. Vorversuch fand zur Kontrolle im Winter statt.

1.2 Sensibilisierung

Die Sensibilisierung wurde am Nacken der Tiere durchgeführt. Eine Fläche von ca. 3 x 3 cm² um die vorgesehene Applikationsstelle wurde mit einem elektrischen Haarschneider vorsichtig rasiert, um Verletzungen der Hautoberfläche zu vermeiden. 24 Stunden später wurden 40 µl DNCB (Konzentration 50 %, Lösungsmittel Aceton) auf die Absorptionsschicht eines Testpflasters (AL-Test) aufpipettiert und dieses mittels eines Heftpflasters auf dem vorgesehenen Nackenareal befestigt.

Obwohl für starke Allergene wie Dinitrochlorbenzol eine einmalige 24-stündige Exposition ausreicht, (14, 41) führten wir die Sensibilisierung 3 mal an 3 aufeinanderfolgenden Tagen durch, um sicherzustellen, daß wirklich alle Tiere sensibilisiert waren. Die Expositionszeit betrug jeweils 24 Stunden. Es bildeten sich an den Auftragsstellen nassen-

de Erosionen, teilweise mit nekrotischen Bezirken, die durch die toxische Konzentration des Allergens (50%) (60, 81) hervorgerufen wurden. Die Läsionen heilten unter Schorf- und Krustenbildung in der Folgezeit ab.

1.3 Auslösung der Kontaktdermatitis (Challenge)

Für die Auslösung der allergischen Kontaktdermatitis wählten wir die beiden Flanken der Tiere als Applikationsstellen. Zunächst rasierten wir diese großzügig mit dem elektrischen Haarschneider. Die bestehenbleibende Restbehaarung wurde dann mit der Enthaarungscreme "pilca [®]" entfernt. Eine erhöhte Irritabilität der Haut durch diese chemische Depilation (49, 67) konnten wir nicht feststellen.

Mittels einer Tuberkulinspritze wurde in die rechte Flanke 0,1 ml Tagametlösung (Verdünnung der Stammlösung 1:2, Lösungsmittel isotonische NaCl-Lösung) intrakutan injiziert. In die linke Flanke wurde 0,1 ml isotonische NaCl-Lösung ohne Zusatz als Vergleichsmöglichkeit injiziert. Eine Quadrelbildung war deutlich sichtbar und tastbar. Die mit DNCB (40 ml, Konzentration 0,05 %, Lösungsmittel Aceton) beschichteten Epikutantestpflaster (74) wurden über den Quadern mit Heftpflaster durch Umwickeln des Rumpfs befestigt (74).

Nach einer Expositionszeit von 24 Stunden wurden die Pflaster entfernt und die Testareale mit einem nicht wasserlöslichen Filzstift markiert.

1.4 Ablesung der Reaktion

Zur Beurteilung der Intensität einer Epikutantestreaktion werden verschiedene Methoden in der Literatur beschrieben:

- Beurteilung der Intensität des Erythems (15, 49, 67)
nach unterschiedlichen Stärkeskalen
- Bestimmung der Fläche des Erythems (40, 44, 53)
- Halbquantitative Auswertung verschiedener Effloreszenzen (Erythem, Infiltrat, Papeln, Bläschen, Blasen)
(9, 10, 25, 76)
- Bestimmung der Zunahme der Hautfaltendicke (42, 53,
57, 71, 78)
- Bestimmung des Reaktionsvolumens (53, 57)

Wir verwendeten die Dickenzunahme der Haut als Maßstab für die Reaktionsstärke. Diese Methode differenziert wesentlich genauer als die ebenfalls geeignete Beurteilung der Erythemintensität, die übrigen Verfahren erwiesen sich als zu ungenau (74).

Bei der allergischen Reaktion entsteht durch Ansammlung von Entzündungszellen in der Dermis ein Infiltrat (9, 48, 52). Dadurch nimmt die Hautdicke im Testbereich zu; dies kann als Maß für die Stärke des Reaktionsverlaufs genommen werden. Zwar ist sie nicht direkt zugänglich, wohl aber die Dicke einer Hautfalte. Diese kann unter Verwendung eines Testzirkels abgenommen werden.(78). Wir modifizierten eine Schublehre, indem wir auf die Branchen des Instruments zur Vergrößerung der Auflagefläche Metallplättchen aufschweißten. Ein großflächiges, druckloses Anliegen der Branchen an die Hautfalte wurde dadurch ermöglicht. Die Messungen mußten von zwei Personen durchgeführt werden. Während die eine die Haut im Bereich der Teststelle zu einer Hautfalte formte und ohne Druck oder Zug hielt, nahm die zweite die Messung mit der Schublehre vor, ohne dabei die Hautfalte des Tieres zu komprimieren.

Gemessen wurden die Hautdicken der Testareale zu folgenden Zeitpunkten:

1. Vor der Auslösung der Reaktion an der bereits enthaarten Stelle (0 h)
2. 24 Stunden und 48 Stunden nach Challenge (Auslösung)

Die Differenz zwischen 2. und 1. ergab die jeweilige Reaktionsstärke nach 24 Stunden und 48 Stunden.

Zur Optimierung der Werte wurden die Messungen nacheinander von 2 Beobachtern, unabhängig voneinander, durchgeführt und der algebraische Mittelwert errechnet. Die mittlere Abweichung D zwischen den beiden Beobachtern war sehr gering (D ist errechnet aus den absoluten Beträgen der Einzeldifferenzen). Sie lag bei 0,1 mm, was einer prozentualen Differenz von 6,2 % entspricht (74).

1.5 Entnahme und Verarbeitung der Gewebeproben

48 Stunden nach Challenge wurden die Versuchstiere getötet und aus den Testarealen (linke und rechte Flanke) Gewebeproben zur Histamingehaltsbestimmung entnommen. Auch von fünf unsensibilisierten Tieren wurden zu vier verschiedenen Tageszeiten Gewebeproben gewonnen, um Histaminkontrollwerte zu erhalten. Die freipräparierten Hautstückchen wurden nach Entfernung des subkutanen Fetts gewogen, in Aluminiumfolie verpackt und bis zur Weiterverarbeitung bei -20°C in der Tiefkühltruhe aufbewahrt.

Zur Histaminbestimmung wurden die Präparate wie folgt weiterverarbeitet:

1. Die Gewebestücke wurden in flüssigem Stickstoff abgekühlt.
2. Die Präparate wurden mit dem Mikrodismembrator II (Braun-Melsungen AG, 3508 Melsungen, Deutschland) zer-

- kleinert (30 sec. lang).
3. Das zertrümmerte Gewebe wurde in Plastikröhrchen aufgefangen und in Aqua bidestillata aufgetaut.
 4. Die noch verbleibenden Zellstrukturen wurden im Ultraschallgerät Ultrasonic Disintegrator 100 W Modell (Measuring & Scientific Equipment Ltd., 25-28 Buckingham Gate, London, Großbritannien) aufgeknackt (90 Sekunden bei maximaler Energie).
 5. Die Sedimentation erfolgte in der Ultrazentrifuge Spinco L 2 (Beckman Instruments, 2500 Harbor Boulevard Fullerton, California, USA) (Rotor Ti 50, 30 Minuten bei 30000 RPM).
 6. Zur Enteiweißung wurde 30 %ige Perchlorsäure (1 ml) verwendet.
 7. Erneut wurde zentrifugiert (10 Minuten bei 3000 RPM).
 8. Der Überstand wurde gefriergetrocknet, Gefriertrockner Typ 200 (Heraeus-Christ GmbH, Gipsmühlenweg 62, Osterode am Harz, Deutschland).
 9. Das Lyophilisat wurde mit 1 ml Aqua bidestillata aufgelöst (Standardisierung).
 10. Schließlich erfolgte die fluorometrische Histaminbestimmung (75) im Autoanalyser Technicon Auto Analyzer II Fluoronephelometer, Bad Vilbel, Deutschland.

Der ermittelte Histaminwert wird durch das Nativgewicht des Gewebestücks (gewogen vor dem Einfrieren) dividiert. Man erhält die Histaminkonzentration in $\mu\text{g/g}$ Gewebe.

Ein Probedurchlauf mit Tagamet zeigte, daß dieses Medikament im Autoanalyser nicht fluoresziert und somit die Histaminbestimmung nicht beeinträchtigt.

2. Reagenzien

2.1 Dinitrochlorobenzol (DNCB)

Als Kontaktallergen für unsere Epikutantests wählten wir 1-chloro-2,4-dinitrobenzol (DNCB).

DNCB gehört zu den stärksten bekannten Kontaktallergenen (9) und erreicht schon bei einmaliger Exposition Sensibilisierungsraten bis zu 100 % (15). Es ist das am meisten verwendete Allergen für Sensibilisierungen am Meerschweinchen (49, 76, 78) und im Hinblick auf Expositionszeit (41) und Konzentration (18, 26, 60, 81) ausreichend untersucht. Die minimale toxische Schwellenkonzentration ist 0,1 % (gelöst in Aceton).

DNCB ist ein gelbes Pulver, das in Wasser unlöslich, in organischen Lösungsmitteln wie Äther, Aceton und Benzol gut löslich ist (9, 15, 18). Sein Molekulargewicht beträgt 202,55, sein Schmelzpunkt liegt bei 50 - 52° C.

Seine Strukturformel ist aus Abbildung (1) zu entnehmen:

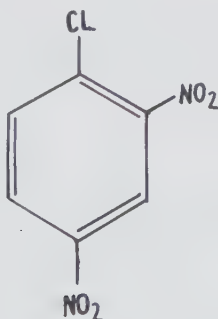


Abb. 1: 1-Chloro-2,4-dinitrobenzol (DNCB)

Zur Sensibilisierung der Tiere verwendeten wir jeweils 40 µl einer 50 %igen Lösung von DNCB in Aceton, zur Provokation (Challenge) eine nur 0,05 %ige Lösung (18), um toxische Reaktionen sicher auszuschließen.

2.2 Cimetidin

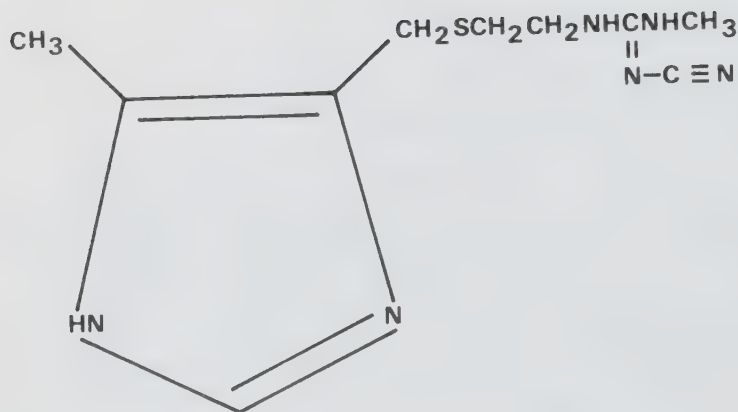


Abb. 2: Chemische Strukturformel von Cimetidin [N"-Cyan-N-Methyl-N'-(2 (5-Methyl-4-Imidazolyl) Methyl- Thio-Ethyl) Guanidin] .

Cimetidin ist ein Antihistaminikum, das durch eine kompetitive Hemmung der Histamin H_2 -Rezeptoren wirkt. Therapeutisch angewendet wird Cimetidin zur Hemmung der basalen, sowie stimulierten Sekretion von Magensäure. Außerdem wird die Ausschüttung von Pepsin vermindert.

Empfohlen wird eine perorale oder intravenöse Applikation bis zu einer maximalen Tagesdosis von 2 g. Kontraindikationen sind bis heute nicht bekannt. Das im Handel angebotene Präparat (Tagamet^R, SK & F Lab, CO, Carolina, USA) enthält 229 mg Cimetidinhydrochlorid (entsprechend 200 mg Cimetidin) in 2 ml Ampullenlösung. Bei unseren Versuchen injizierten wir intrakutan 0,1 ml einer 1:2 Verdünnung der Stammlösung, das sind 5 mg Cimetidin.

3. Statistik

Da alle Versuchstiere einer Gruppe unter den gleichen, standardisierten Bedingungen getestet wurden, sollte theoretisch auch das Ergebnis bei allen Tieren übereinstimmen. Die in der Realität aber erhaltenen Abweichungen können erklärt werden durch die natürliche Variabilität, die in eine interindividuelle und eine intraindividuelle Komponente unterteilt wird (36, 79). Zur Beschreibung dieser natürlichen Variabilität, die zur Streuung der Meßwerte um einen Mittelwert führt, ist die Gauß- oder Normalverteilung (6) besonders geeignet.

Wir errechneten aus den Meßwerten jeder Gruppe das arithmetische Mittel $\bar{x}$ und den mittleren Fehler des Mittelwerts $\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$, wobei σ die Standardabweichung (Streuung) und n die Zahl der Versuchstiere in der Gruppe bedeuten. Der wahre Mittelwert liegt zu 68,26 % innerhalb des Intervalls $\bar{x} \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$ (36).

Zur statistischen Überprüfung der unterschiedlichen Ergebnisse von einzelnen Gruppen, wurde der Student-t-Test durchgeführt (36, 79). Der hier errechnete Wert p gibt, multipliziert mit 100 %, die Irrtumswahrscheinlichkeit einer Behauptung in % an. Als signifikant gelten Werte für $p < 0,01$. Oft wird aber auch noch $p < 0,05$ als signifikant angesehen.

C. ERGEBNISSE

1. Streuung der Messwerte beim Verlauf der allergischen Kontaktdermatitis

In einem Vorversuch zur Überprüfung der Methodik wurden 2 Gruppen von Meerschweinchen, wie im Methodenteil (1.2) beschrieben, sensibilisiert. An 3 aufeinanderfolgenden Tagen wurde dabei jeweils um 18 Uhr die 50 %ige DNCB-Lösung appliziert. 14 Tage nach der letzten Sensibilisierung wurde die Reaktion ausgelöst (Challenge) und deren Stärke bei jedem Tier nach 24 sowie 48 Std. gemessen. Der Challenge erfolgte bei Gruppe II 12 Stunden später als bei Gruppe I. Dieser Versuch fand als einziger im Winter (Dezember) statt. Der genaue Ablauf ist aus Abb. 3 zu ersehen.

	Sensibilisierung						Challenge						Ablesung							
Gruppe I	+		+		+		+		+		+		+		+					
Gruppe II	+		+		+		+		+		+		+		+					
	0	6	12	18	0	6	12	18	0	6	12	18	0	6	12	18				
	1. Tag				2. Tag				3. Tag				17. Tag				18. Tag			

Abb. 3: Darstellung eines vorläufigen Versuchsablaufs.

Angegeben sind die Zeitpunkte von Sensibilisierungen, Challenge und Ablesung. (Jede Gruppe n= 5)

Während die linke Flanke jedes Tieres ohne Medikation blieb, d.h. nur mit isotonischer NaCl-Lösung unterspritzt wurde, wurde die DNCB-Auftragsstelle auf der rechten Flanke kurz vor der Reaktionsauslösung mit einem intrakutanen Tagamet-Depot versehen.

Es ergaben sich folgende Hautdickenzunahmen auf der unbehandelten Seite:

	Zeitpunkt der Sensibilisierung	Zeitpunkt des Challenge	Hautdickenzunahme				Zahl der Tiere
			nach 24 h	nach 48 h	nach 24 h	nach 48 h	
			$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	
Gruppe I	18 h	0 h	0,54	0,08	0,35	0,06	5
Gruppe II	18 h	12 h	0,61	0,15	0,33	0,11	5

Tabelle 1: Übersicht über Ablauf und Ergebnisse eines methodischen Vorversuchs mit Variation des Challenge-Zeitpunkts. Die Tiere waren nicht mediziert, der Abstand zwischen letzter Sensibilisierung und Challenge betrug 14 Tage ($\bar{x}$ in mm).

Auf der mit Tagamet unterspritzten Flanke ergaben sich folgende Ergebnisse:

	Zeitpunkt der Sensibilisierung	Zeitpunkt des Challenge	Hautdickenzunahme				Zahl der Tiere
			nach 24 h	nach 48 h	nach 24 h	nach 48 h	
			$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	
Gruppe I	18 h	0 h	0,52	0,07	0,39	0,12	5
Gruppe II	18 h	12 h	0,69	0,11	0,46	0,09	5

Tabelle 2: Übersicht über Ablauf und Ergebnisse eines methodischen Vorversuchs mit Variation des Challenge-Zeitpunkts. Die Auslösungsstelle war intrakutan mit Tagamet unterspritzt, der Abstand zwischen letzter Sensibilisierung und Challenge betrug 14 Tage. ($\bar{x}$ in mm)

Auf der Suche nach einem aussagekräftigen Modell reduzierten wir die Zeit zwischen letzter Sensibilisierung und Challenge von 14 Tage auf 7 Tage. Alle übrigen Parameter blieben konstant. Dieser Versuch und alle weiteren fanden im Sommer (Juli - August) statt. Der Versuchsablauf ist aus Abb. 4 ersichtlich.

Sensibilisierung			Challenge	Ablesung			→t
+	+	+	+	+	+		
0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	[h]	
1. Tag	2. Tag	3. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag	[d]	

Abb. 4: Darstellung des endgültigen Versuchsablaufs zur Ermittlung von Kontrollwerten. Angegeben sind die Zeitpunkte von Sensibilisierung, Challenge und Ablesung. (n= 20)

Die linke Flanke jedes Tieres blieb wieder ohne Medikation (nur Injektion von isotonischer NaCl-Lösung), bei der rechten Flanke wurde die DNCB-Auftragsstelle kurz vor der Reaktionsauslösung mit einem intrakutanen Tagamet-Depot versehen.

Wie im folgenden gezeigt, ermittelten wir stärkere Hautdickenzunahmen. Wir behielten deshalb dieses Modell auch bei späteren Versuchen bei. Die errechneten Durchschnittswerte dienten uns auf Grund der Zahl der getesteten Tiere (n= 20) als Kontrollen für die späteren Untersuchungen.

1.1 Reaktion ohne Medikation

Zeitpunkt der Sensibilisierung	Zeitpunkt des Challenge	Hautdickenzunahme				Zahl der Tiere
		nach 24 h		nach 48 h		
		$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	
18 h	18 h	0,75	0,07	0,68	0,07	20

Tabelle 3: Übersicht über Ablauf und Ergebnisse des Versuchs zur Ermittlung von Kontrollwerten bei unbehandelten Tieren ($\bar{x}$ in mm)

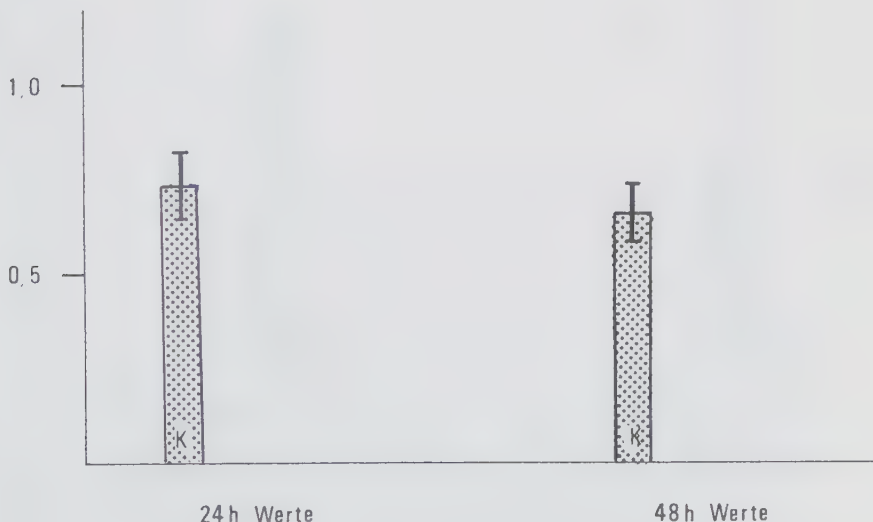


Abb. 5: Kontrollwerte für unbehandelte Tiere:
Hautdickenzunahme der unbehandelten Tiere, 24 und 48 Stunden nach Challenge. Der Zeitpunkt von Sensibilisierung und Challenge ist jeweils 18 Uhr. (n = 20)

1.2 Reaktion nach Behandlung mit H₂-Antagonisten

Zeitpunkt der Sensibilisierung	Zeitpunkt des Challenge	Hautdickenzunahme				Zahl der Tiere
		nach 24 h	nach 48 h	nach 24 h	nach 48 h	
		$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	
18 h	18 h	1,01	0,06	0,91	0,07	20

Tabelle 4: Übersicht über Ablauf und Ergebnisse des Versuchs zur Ermittlung von Kontrollwerten bei Tagamet-behandelten Tieren ($\bar{x}$ in mm).

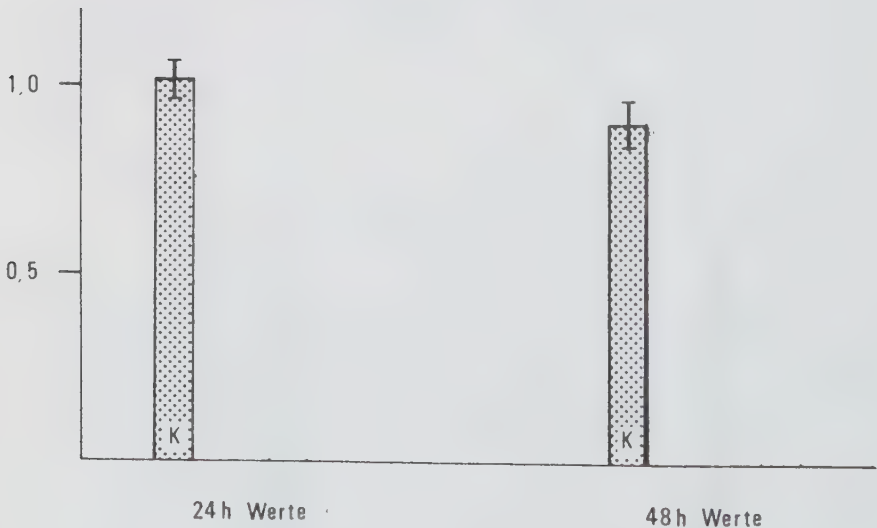


Abb. 6: Kontrollwerte nach Behandlung mit H₂-Antagonisten: Hautdickenzunahme der Tagamet-behandelten Tiere, 24 und 48 Std. nach Challenge. Der Zeitpunkt von Sensibilisierung und Challenge ist jeweils 18 Uhr.

Die Tagamet-behandelten Tiere zeigten erheblich stärkere Reaktionen als die unbehandelten Tiere. Die Hautdickenzunahme betrug nach 24 Stunden und 48 Std. ca. 0,25 mm mehr. (Signifikanz $p < 0,001$ für die 24 h-Werte, $p < 0,005$ für die 48 h-Werte.

2. Zirkadiane Einflüsse auf die Auslösungsphase (Challenge)

Um mögliche zirkadiane Einflüsse auf die Auslösungsphase zu untersuchen, wurden 4 Gruppen von Meerschweinchen zur gleichen Tageszeit sensibilisiert (18 Uhr). Die Auslösung erfolgte dagegen bei jeder Gruppe zu einer anderen Tageszeit. Die Stärke der Reaktion wurde nach jeweils 24 und 48 h gemessen. Der Versuchsablauf ist in Abb. 7 dargestellt.

	Sensibilisierung									Challenge	Ablesung								
Kontrollgr.	+				+					+					+				+
Gruppe I	+				+					+					+				
Gruppe II	+				+					+						+			
Gruppe III	+				+					+							+		
Gruppe IV	+				+					+						+			+
	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18	0 6 12 18
	1. Tag	2. Tag	3. Tag							10. Tag	11. Tag	12. Tag							

Abb. 7: Modell zur Untersuchung zirkadianer Einflüsse auf die Auslösungsphase. Dargestellt sind die Zeitpunkte von Sensibilisierung, Challenge und Ableseung bei den einzelnen Gruppen und der Kontrollgruppe. Wieder blieb die linke Flanke ohne Medikation, während die rechte Flanke intrakutan mit Tagamet unterspritzt wurde.

2.1 Reaktion ohne Medikation

	Zeitpunkt der Sensibilisierung	Zeitpunkt des Challenge	Hautdickenzunahme				Zahl Tier
			nach 24 h	nach 48 h	nach 24 h	nach 48 h	
			$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	
Gruppe I	18 h	0 h	0,42	0,05	0,72	0,17	5
Gruppe II	18 h	6 h	0,58	0,06	0,52	0,04	5
Gruppe III	18 h	12 h	0,74	0,10	0,42	0,09	5
Gruppe IV	18 h	18 h	0,78	0,16	0,88	0,18	5
Kontrollgr.	18 h	18 h	0,75	0,07	0,68	0,07	20

Tabelle 5: Hautdickenzunahme bei variiertem Challenge-Zeitpunkt:

Ablauf und Ergebnisse an nichtmedizierten Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe ($\bar{x}$ in mm)

Aus Tabelle 5 ist zu entnehmen, daß die Gruppe IV in Sensibilisierungszeitpunkt (18 h) und Challengezeitpunkt (18 h) mit den Tieren des Kontrollversuchs (1.1) übereinstimmt. Erwartungsgemäß liegen auch ihre Meßergebnisse im Rahmen der im Vorversuch ermittelten Werte (Tabelle 5, Abb. 8).

Auch die Gruppe III (Challenge um 12 h) erreicht den 24 h-Wert des Vorversuchs, fällt dann aber zum 48 h-Wert stärker ab (signifikant niedriger als Kontrolle, da $p < 0,005$). Um so auffälliger ist es, daß die Reaktion bei den Gruppen I (beim Vergleich der 24 h-Werte signifikant niedriger als Kontrollgruppe, da $p < 0,025$) und Gruppe II (beim Vergleich der 24 h-Werte niedriger als Kontrollgruppe, $p < 0,20$) verzögert einsetzte (Challenge um 0 h und 6 h). Die Gruppe I erreichte den 24 h-Durchschnittswert sogar erst nach 48 h.

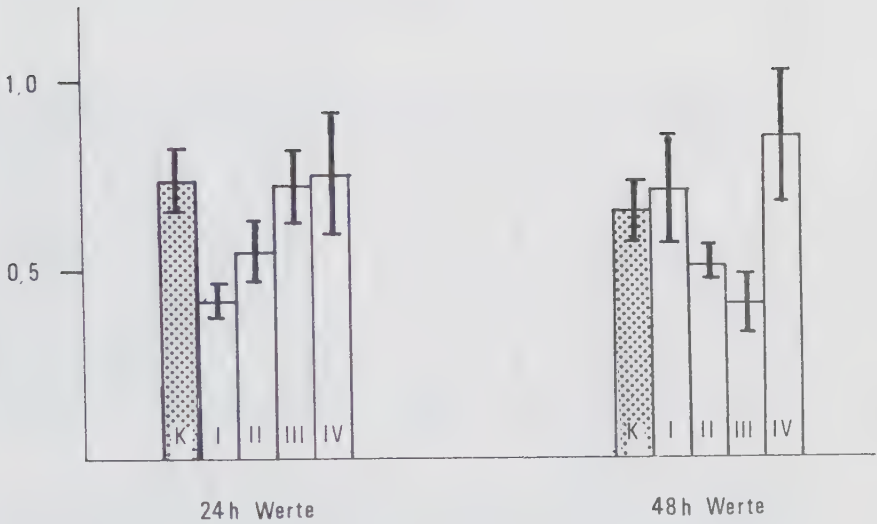


Abb. 8: Hautdickenzunahme bei unbehandelten Tieren 24 h und 48 h nach Challenge im Vergleich zur Kontrollgruppe K (aus Abb. 5). Challenge erfolgte im Abstand von 6 h von Gruppe zu Gruppe. (Bei jeder Gruppe n = 5)

2.2 Reaktion nach Behandlung mit H_2 -Antagonisten

Bei den mit Tagamet behandelten Tieren ergaben sich folgende Resultate:

	Zeitpunkt der Sensibilisierung	Zeitpunkt des Challenge	Hautdickenzunahme				Zahl Tiere
			nach 24 h	nach 48 h	nach 24 h	nach 48 h	
			$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	
Gruppe I	18 h	0 h	0,78	0,12	0,90	0,09	5
Gruppe II	18 h	6 h	0,90	0,12	0,86	0,18	5
Gruppe III	18 h	12 h	0,90	0,19	0,64	0,11	5
Gruppe IV	18 h	18 h	1,16	0,07	0,92	0,11	5
Kontrollgr.	18 h	18 h	1,01	0,06	0,91	0,07	20

Tabelle 6: Hautdickenzunahme bei variiertem Challenge-Zeitpunkt nach Behandlung mit H_2 -Antagonisten:
Übersicht über Ablauf und Ergebnisse im Vergleich zur Kontrollgruppe ($\bar{x}$ in mm).

Auch bei diesem Versuch liegen die Werte unserer Vergleichsgruppen (IV) im Rahmen des im Vorversuchs ermittelten Durchschnitts. Die Reaktion bei Gruppe I setzt wieder verzögert ein (wie 2.1), während sie bei Gruppe III schneller abklingt, als bei der Kontrollgruppe. Allerdings ist der zu den unbehandelten Gruppen ähnliche Trend nicht mehr signifikant. Beim Vergleich zwischen unbehandelten und mit Tagamet behandelten Gruppen, stellt man wieder eine wesentlich stärkere Reaktion der mit Tagamet-Depot versehenen Gruppen fest ($\Delta \bar{x} \approx 0,3 - 0,4$ mm, Signifikanz $p < 0,001$ beim Vergleich der 24 h-Werte und $p < 0,025$ bei den 48 h-Werten). Möglicherweise überlagert die durch Tagamet verstärkte Reaktion biorhythmische Schwankungen und hebt sie dadurch auf.

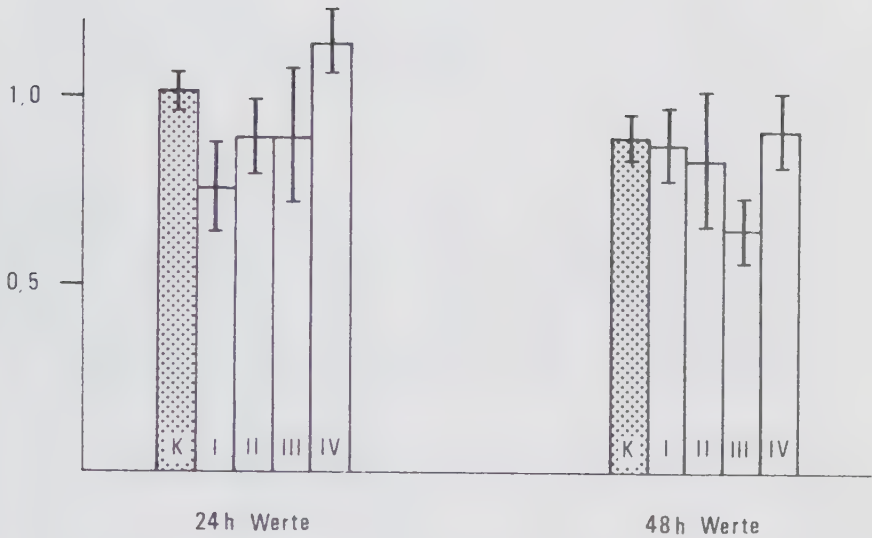


Abb. 9: Hautdickenzunahme bei Tieren, die mit Tagamet behandelt wurden, 24 h und 48 h nach Challenge im Vergleich zur Kontrollgruppe K (aus Abb. 6). Challenge erfolgte von Gruppe zu Gruppe im Abstand von 6 h. Bei jeder Gruppe $n = 5$.

3. Einfluß von zirkadianen Rhythmen auf die Sensibilisierungsphase

Nachdem die Variation des Auslösungszeitpunkts Unterschiede in der Stärke der darauffolgenden Dermatitis zeigte, untersuchten wir auch den Einfluß eines unterschiedlichen Sensibilisierungszeitpunkts. Hierzu wurden 4 Gruppen von Meer-schweinchen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen auf schon be-schriebene Art (1.2 des Methodikteils)sensibilisiert. Je-doch erfolgte die DNCB-Applikation bei jeder Gruppe zu einer anderen Tageszeit.

7 Tage nach der letzten Sensibilisierung wurde die Entzün-dungsreaktion durch Auftragen von DNCB-Lösung auf beide Flan-ken ausgelöst. Wieder wurde die Auftragsstelle der rechten Flanke mit einer intrakutanen Tagametinjektion versehen. Challenge und Ablesung erfolgte an 3 aufeinanderfolgenden Tagen jeweils um 18 h. Der genaue Ablauf ist aus Abb. 7 zu ersehen.

	Sensibilisierung												Challenge			Ablesung											
Kontrollgr.																											
Gruppe I																											
Gruppe II																											
Gruppe III																											
Gruppe IV																											

Abb. 10: Modell zur Untersuchung zirkadianer Einflüsse auf die Sensibilisierungsphase. Dargestellt sind die Zeitpunkte von Sensibilisierung, Challenge und Ablesung bei den einzelnen Gruppen und der Kontrollgruppe.

3.1 Reaktion ohne Medikation

Auf der linken Seite der Tiere, die ohne Medikation blieb, ergaben sich folgende Werte:

	Zeitpunkt der Sensibilisierung	Zeitpunkt des Challenge	Hautdickenzunahme				Zahl der Tiere
			nach 24 h		nach 48 h		
			$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	
Gruppe I	0 h	18 h	0,74	0,17	0,62	0,12	5
Gruppe II	6 h	18 h	0,95	0,20	0,68	0,14	4
Gruppe III	12 h	18 h	0,74	0,07	0,54	0,05	5
Gruppe IV	18 h	18 h	0,68	0,10	0,44	0,07	5
Kontrollgr.	18 h	18 h	0,75	0,07	0,68	0,07	20

Tabelle 7: Hautdickenzunahme bei variiertem Sensibilisierungszeitpunkt:

Übersicht über Ablauf und Ergebnisse am unbehandelten Tier im Vergleich zur Kontrollgruppe.
($\bar{x}$ in mm)

Auch bei diesem Versuch fungiert die Gruppe IV (Sensibilisierung 18 h, Challenge 18 h) als Vergleichsgruppe. Sie liegt nach 24 h im Rahmen des zu erwartenden Mittelwertes, nach 48 h allerdings erheblich darunter.

Die Gruppe II zeigt bei der 24 h-Messung eine erhöhte Reaktion, die sich nach 48 h aber den Werten der übrigen Gruppen angeglichen hat.

Insgesamt liegen die 24 h-Werte im Bereich des ermittelten Durchschnitts, die 48 h-Werte zeigen eine etwas verminderte Reaktionslage.

Der erhöhte Wert der Gruppe II ist nicht signifikant ($p < 0,2$), um einen Einfluß des Sensibilisierungszeitpunktes auf die Stärke der Dermatitis zu zeigen.

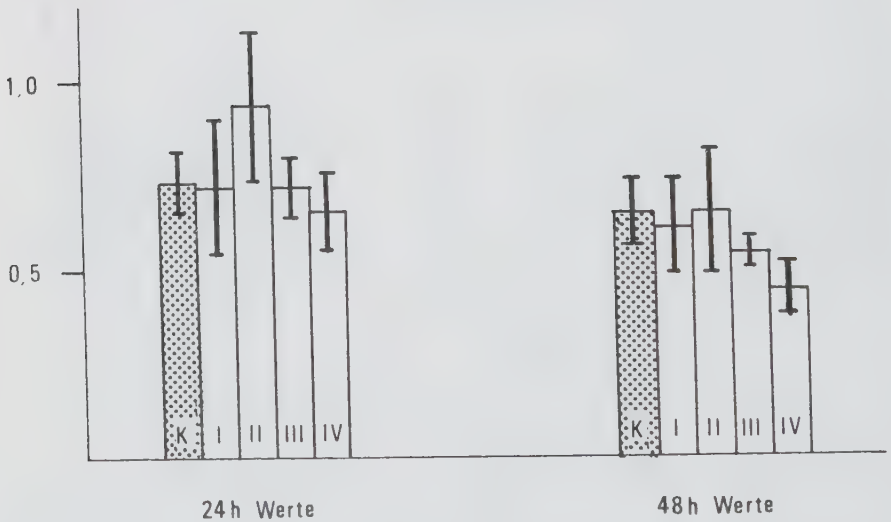


Abb. 11: Hautdickenzunahme bei unbehandelten Tieren, 24 h und 48 h nach Challenge im Vergleich zur Kontrollgruppe K (aus Abb. 5). Die Sensibilisierung erfolgte im Abstand von 6 h von Gruppe zu Gruppe. (Bei jeder Gruppe $n = 5$, nur Gruppe II $n = 4$).

3.2 Reaktion nach Behandlung mit H_2 -Antagonisten

Es ergaben sich folgende Resultate:

	Zeitpunkt der Sensibilisierung	Zeitpunkt des Challenge	Hautdickenzunahme				Zahl der Tiere
			nach 24 h	nach 48 h	nach 24 h	nach 48 h	
			$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	$\bar{x}$	$\frac{s}{\sqrt{n}}$	
Gruppe I	0 h	18 h	0,90	0,17	0,76	0,10	5
Gruppe II	6 h	18 h	0,98	0,19	0,60	0,12	4
Gruppe III	12 h	18 h	1,00	0,10	0,46	0,10	5
Gruppe IV	18 h	18 h	1,14	0,18	0,68	0,15	5
Kontrollgr.	18 h	18 h	1,01	0,06	0,91	0,07	20

Tabelle 8: Hautdickenzunahme bei variiertem Sensibilisierungszeitpunkt nach Behandlung mit H_2 -Antagonisten. Übersicht über Ablauf und Ergebnisse im Vergleich zur Kontrollgruppe ($\bar{x}$ in mm).

Die 24 h-Werte liegen um den im Vorversuch ermittelten Wert, signifikante Abweichungen sind nicht festzustellen. Nach 48 h sind die Werte insgesamt niedriger als der Mittelwert. Bei Gruppe I lag der 48 h-Wert wenig unter dem 24 h-Wert, wegen bei Gruppe III der stärkste Abfall der Reaktion zu verzeichnen ist.

Im Vergleich zur unbehandelten Seite (siehe 3.1) war die Reaktion auf dieser Flanke nach 24 h wieder stärker ($\Delta \bar{x} = 0,25$ mm). Nach 48 h traten allerdings keine größeren Unterschiede mehr auf. Die Dermatitis bildete sich hier rascher zurück, als bisher zu beobachten war. Eine Tagamet-induzierte

Verstärkung der Reaktion war nach 48 h also nicht mehr vorhanden.

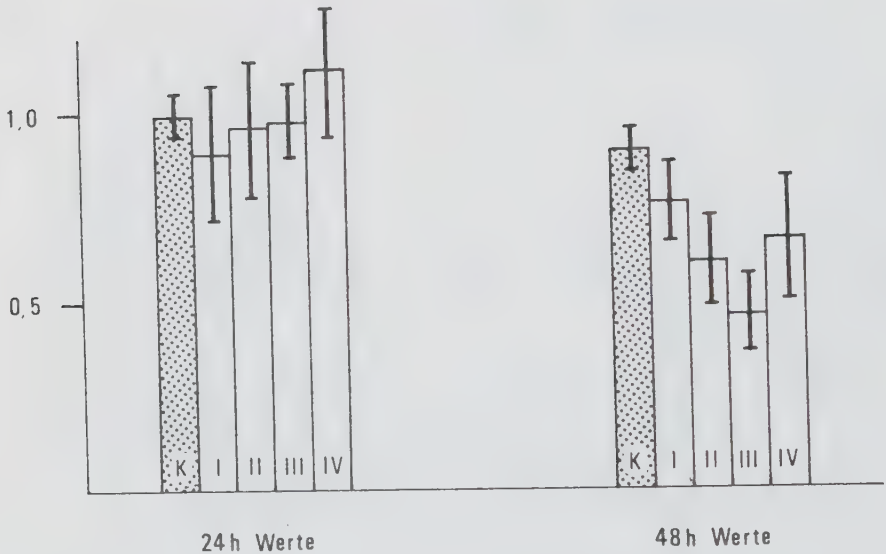


Abb. 12: Hautdickenzunahme bei Tieren, deren Challenge-
stelle mit einem intrakutanen Tagament-Depot
versehen war. 24 h und 48 h nach Challenge im
Vergleich zur Kontrollgruppe K (aus Abb.6).
Die Sensibilisierung erfolgte im Abstand von
6 h von Gruppe zu Gruppe. (Gruppe II n = 4,
sonst n = 5)

4. Histamingehalt der Gewebeproben

Im Anschluß an die Dissertationsarbeit von Hans Grimm, der den Gewebehistaminspiegel in der Frühphase (0 h - 24 h) der Kontaktdermatitis am Meerschweinchen beobachtete, (34) untersuchten wir den Histamingehalt von Hautproben, 48 h nach Auslösung. Die Proben wurden von Tieren, unbehandelt, wie auch mit Tagamet-Behandlung, nach erfolgter 48 h-Messung gewonnen.

Die Histaminkonzentrationen sind mit den zugehörigen Hautdickenzunahmen der Abb. 13 zu entnehmen. Sie verhielten sich hierbei etwa umgekehrt proportional zu den Reaktionsstärken, (gemessen an der Hautdickenzunahme), die zu diesem Zeitpunkt bei den Gruppen mit höchstem Histamingehalt schon weit zurückgegangen waren.

Im Einzeltiervergleich zeigt sich die indirekte lineare Abhängigkeit (siehe Abb. 14) mit einem Korrelationskoeffizienten $r = -0,56$, die eine Signifikanz $p < 0,01$ zeigt.

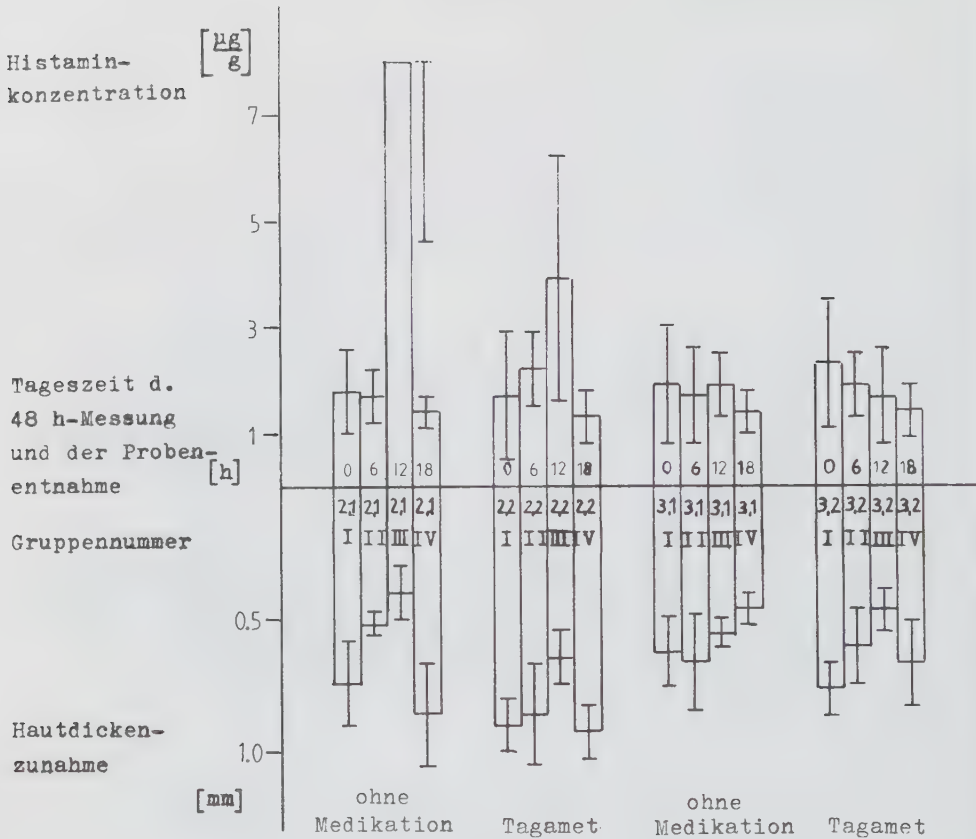


Abb. 13: Vergleich zwischen Histaminkonzentration, Tageszeit der Entnahme und Hautdickenzunahme (48 h nach Challenge) von Gewebeproben unbehandelter, wie auch Tagamet-behandelter Tiere. (Jede Gruppe n = 5, nur 3.1 Gruppe II und 3.2 Gruppe II n = 4).

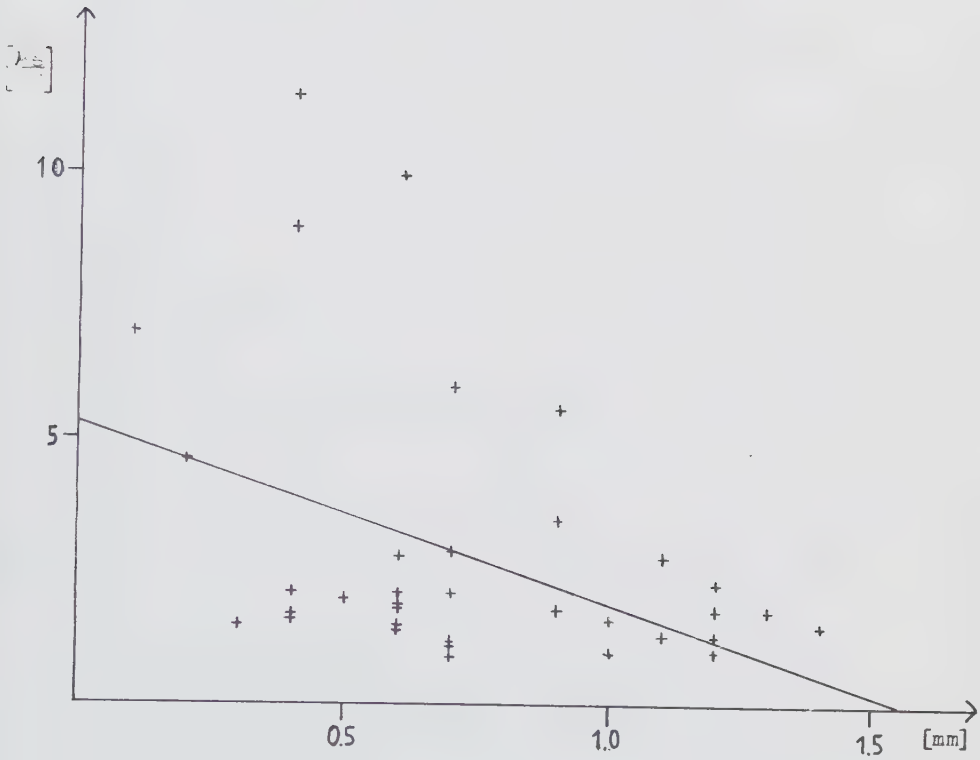


Abb. 14: Abhängigkeit zwischen Histaminkonzentration und Hautdickenzunahme im Einzeltiervergleich. Die eingezeichnete Linie ist die Regressionsgerade y bezüglich x ($r = -0,56$ $p < 0,01$, $n = 40$)

4.1 Gewebshistaminspiegel während des Verlaufs der allergischen Kontaktdermatitis

Auf Grund unserer Untersuchungen ergaben sich - zum Teil in Zusammenarbeit mit Hans Grimm (34) - folgende Gewebshistaminspiegel:

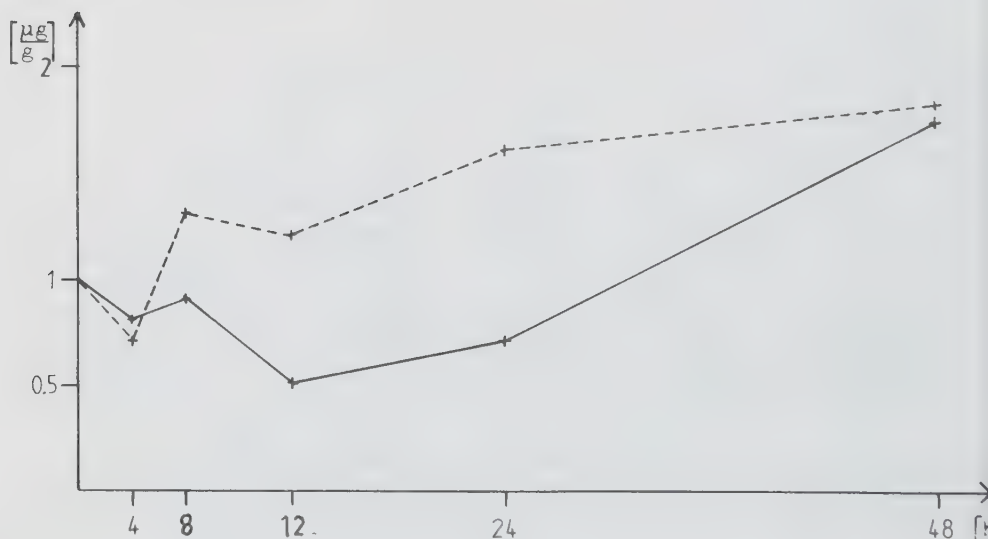


Abb. 15: Verhalten der Histaminkonzentration in der Haut ($\mu\text{g/g}$) bei allergischer Kontaktdermatitis ohne Medikation (durchgezogene Linie) und mit intracutaner Injektion von Tagamet (gestrichelte Linie). Aufgetragen sind die Mittelwerte im zeitlichen Verlauf (in h nach Challenge durch DNCB-Lösung). $n = 35$ (bei jedem der 48 h-Werte).

Es ist ersichtlich, daß die anfangs unterschiedlichen Kurven sich nach 48 h einem gemeinsamen Wert genähert haben. Dies ist durch ein Nachlassen der Tagamet-Wirkung zu erklären. Die Histaminkonzentration in der Haut ist nach

48 h fast doppelt so hoch wie der Ausgangswert.

4.2 Tageszeitliche Abhängigkeit der Histaminkonzentration in der Haut

Wie aus Abb. 13 zu entnehmen ist, scheinen auch bei Histaminkonzentrationen tageszeitliche Unterschiede zu existieren. Während die um 0 h, 6 h und 18 h entnommenen Proben im Durchschnitt etwas unter $2 \mu\text{g/g}$ Histamin enthielten, maßen wir in den um 12 h gewonnenen Gewebstückchen Konzentrationen von $3,90 \mu\text{g/g}$ und $8,15 \mu\text{g/g}$. (Durchschnitte aus jeweils 5 Proben).

Zum Vergleich ermittelten wir an 5 weiteren Meerschweinchen ein Histamintagesprofil der Haut. Hierzu wurden den unbehandelten Tieren jeweils im Abstand von 6 h Gewebeproben entnommen. Die Konzentrationsschwankungen jedes einzelnen Tieres sind in Abb. 16 dargestellt. Es zeigt sich ein Maximum um 6 h und ein Minimum um 18 h.

Die Ergebnisse dieses Tagesprofils zeigen Unterschiede gegenüber den bei sensibilisierten Tieren 48 h nach Challenge ermittelten Werten (Abb. 13). Da jedoch die Histaminwerte nach Challenge nur Einzelwerte pro Tier darstellen, ist eine Aussage über eine vielleicht veränderte Periodik des Individuums schwierig. In Gruppe III (Abb. 13) mit den hohen 12 h-Werten finden sich generell höhere Histaminspiegel als in den anderen Gruppen. Eine zuweilen starke Streuung der Werte läßt sich ja auch beim Vergleich der Tagesprofile der 5 untersuchten Tiere feststellen. Hier zeigt ein Tier um 6 h einen besonders hohen Hauthistaminspiegel, wovon die Periodik jedoch unbeeinflusst bleibt.

Möglicherweise tritt aber durch die Sensibilisierung eine Phasenverschiebung des Biorhythmus auf. Die Maxima liegen dann bei 12 h statt bei 6 h.

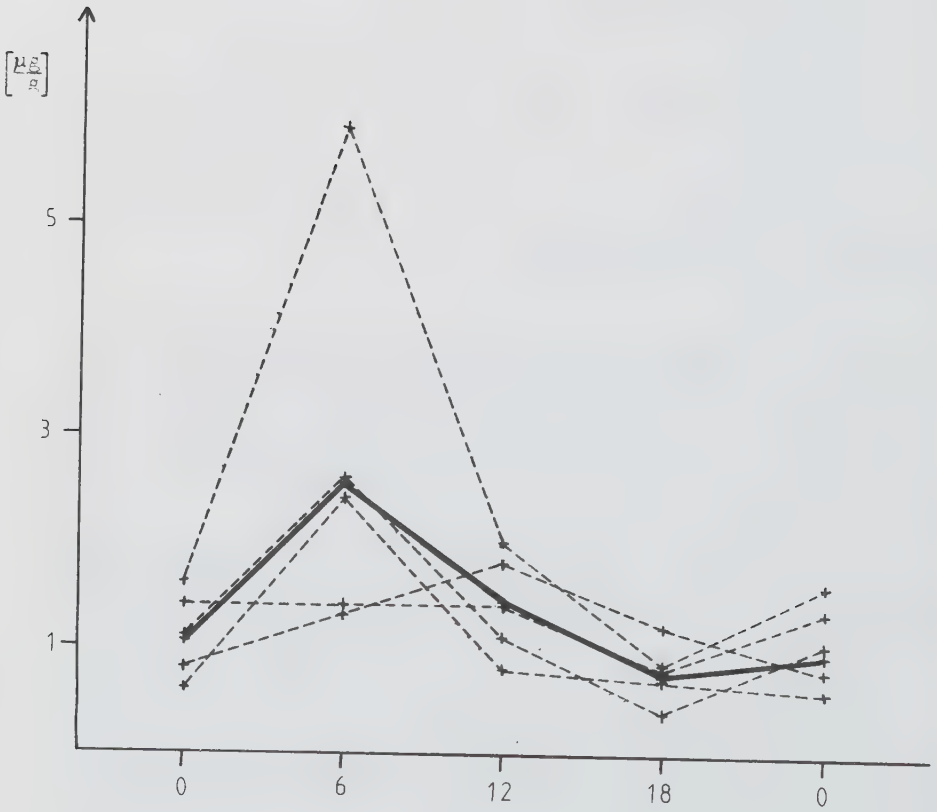


Abb. 16: Tagesprofil der Hauthistaminkonzentration bei 5 verschiedenen Meerschweinchen. Die durchgezogene Kurve stellt die Durchschnittswerte dar.

D. DISKUSSION

Durch unsere Versuche konnten wir zeigen, daß auch der Verlauf der DNCB-induzierten allergischen Kontaktdermatitis beim Meerschweinchen dem Einfluß von Biorhythmen unterliegt. So setzte die Reaktion bei sensibilisierten Tieren, bei denen die Auslösung um 0 h erfolgte, verzögert ein und erreichte erst nach 48 h einen Maximalwert. Erfolgte die Auslösung aber um 12 h mittags, setzte die Reaktion schneller ein, erreichte ihren Maximalwert nach 24 h und war nach 48 h wieder auf die Hälfte zurückgegangen. Eine Auslösung um 6 h und 18 h ergab Werte, die zwischen den beschriebenen Extrema lagen.

Im Gegensatz zu dieser tageszeitlichen Veränderung des Auslösungszeitpunktes ergaben sich bei der Sensibilisierung zu unterschiedlichen Tageszeiten keine entscheidenden Hinweise auf eine veränderte Reaktionslage der Versuchstiere. Nach gleichzeitiger Auslösung lag die Intensität der allergischen Entzündung im Bereich der vorher ermittelten Kontrollwerte.

Ein Versuch fand im Winter statt. Hier zeigten die Tiere geringere Reaktionen ($p < 0,05$) als in allen anderen Versuchen, die im Sommer stattfanden.

Das Antihistaminikum Cimetidin (Histamin H_2 -Rezeptorenblocker) wurde kurz vor der Auslösung der Entzündungsreaktion intrakutan appliziert. Dies führte zu einer um ca. 30 - 35 % stärkeren Reaktion als bei den unbehandelten Kontrolltieren.

Zur Messung des Gewebehistamins wurden Gewebeproben aus dem Entzündungsgebiet entnommen (um 18 h abends). Dabei fand sich ein deutlicher Aufstieg bei allen Gruppen zwischen 0 h und 48 h. Bei 24 h waren die Hauthistaminkonzentrationen deutlich höher in den Tagamet-vorbehandelten Testarealen. Nach 48 h konnte kein Unterschied der Histaminkonzentration festgestellt werden zwischen Tagamet-behandelten und unbehandelten Tieren.

Bei allen diesen Proben war der Histamingehalt aber noch doppelt so hoch wie der Ausgangswert vor Auslösung.

Beim Vergleich zwischen diesen Histaminkonzentrationen und der Hautdickenzunahme (auch 48 h-Werte) jedes einzelnen Tieres konnten wir eine indirekte Proportionalität feststellen.

Eine zirkadiane Periodik des Hauthistaminspiegels konnten wir bei unbehandelten Tieren beobachten. Im Tagesprofil zeigten sich Maxima des Hauthistamingehalts um 6 h morgens, Minima um 18 h abends.

Im folgenden sollen besonders zwei Aspekte dieser Arbeit diskutiert werden:

1. Die Problematik der Biorhythmen
2. Der Einfluß von H_2 -Antagonisten

1. Biorhythmen und allergische Kontaktdermatitis

Noch vor wenigen Jahren wurde an der Existenz von "inneren Uhren" bei Tieren und Pflanzen gerweifelt. Heute weiß man aber, daß viele Lebensprozesse in der Zeit nicht gleichmäßig ablaufen, sondern einer rhythmischen Änderung unterliegen (58). Hieraus ergeben sich viele neue Aspekte für Biologie, Medizin und Pharmakologie.

Die Periodenlänge verschiedener Abläufe kann sehr unterschiedlich sein. Man kennt annuale Rhythmen mit einer Periodenlänge $T \approx 1$ Jahr (Fortpflanzungsrhythmen bei vielen Tieren), lunare Rhythmen mit $T \approx 29,5$ Tagen und tidale (Gezeiten-) Rhythmen mit $T \approx 24$ h 48 min (z.B. Schwimmaktivität einer Meeresassel), diurnale Rhythmen mit $T \approx 1$ Tag (z.B. Aktivitätsmaxima bei Tieren) und Kurzzeit- oder Mikrorhythmen (z.B. Herztätigkeit) (32, 64). Gesteuert werden diese Rhythmen exogen (z.B. durch Hell-Dunkel-Wechsel im Tagesablauf), endogen (z.B. hormonell beim Ovarialzyklus der Frau).

meist aber kombiniert als Exo-Endo-Rhythmen, mit endogenem Zeitgeber und exogener Modifikation (16). So betragen bei frei laufender Rhythmik, d.h. bei konstanter Temperatur und Dauerlicht oder Dauerdunkel die Periodenlängen der diurnalen Rhythmen nicht genau 24 h, sondern meist zwischen 23 h und 26 h. Man spricht deshalb von zirkadianen, d.h. ungefähr 1 Tag betragenden Perioden (Halberg 1959). Diese werden in der freien Natur durch die exogenen Zeitgeber (Temperatur, Tag-Nacht-Wechsel) stets von neuem mit der Erddrehung synchronisiert. (2)

Durch einen künstlichen Hell-Dunkel-Wechsel gelingt es, endogene Rhythmen bei Versuchstieren im Verlauf einer bestimmten Umstimmungszeit beliebig zu verstellen. Beim Menschen erfolgt das nicht ganz ohne Probleme (1). Abgespanntheit, Unkonzentriertheit und verminderte Leistungsfähigkeit gehen einher mit einem Interkontinentalflug oder mit Schichtarbeit. Erst nach 3 - 6 Tagen, wenn die innere Uhr mit der äußeren wieder synchron abläuft, stellt sich der Normalzustand des Befindens ein (37). Beim Vergleich von Individuen der gleichen Art unter konstanten Bedingungen zeigen sich leichte Differenzen hinsichtlich der Periodenlänge und der Form der Kurve. Trotzdem läßt sich zeigen, daß die Rhythmen vererbbar sind. Bei *Drosophila* konnte durch experimentell verursachte Mutation am X-Chromosom die bekannte zirkadiane Rhythmik verändert werden (16). Welche und wie viele Gene im Einzelfall zuständig sind, wird untersucht.

Zirkadiane Rhythmen müssen von großem Selektionswert sein, da eine Rudimentation nur in wenigen Fällen, bei Höhlentieren, Tieren aus arktischen Regionen und einigen Holzkäferarten festgestellt wurde. Selbst hier betraf es aber nur die Bewegungsrhythmik, nicht aber die Stoffwechselrhythmik (16, 64).

Die innere Uhr gestattet es den Organismen, bestimmte Handlungen (Nahrungserwerb etc.) zu ganz bestimmten Tageszeiten, andere zu anderen Zeiten auszuführen. So wird z.B. die Fortpflanzung des Paolowurms zu einem eng begrenzten Zeitpunkt (1 Tag im Jahr) ermöglicht (64). Das erhöht die Chance des Zusammentreffens männlicher und weiblicher Gameten immens. Bei Bienen (29) und Vögeln wird die innere Uhr auch noch zur Sonnenkompaßorientierung benutzt.

Über die Steuermechanismen der Spontanrhythmen und die Lokalisation der "inneren Uhr" besteht noch keine Klarheit. So zeigen sich zirkadiane Rhythmen auch an isolierten Geweben und Organen (z.B. Steroidausschüttung der isolierten Nebenniere der Ratte). Wahrscheinlich ist die innere Uhr also ein zellulärer Mechanismus. Beim Vielzeller werden diese vielen Einzelmechanismen (biochemische Oszillatoren) durch Nervensystem und Endokrinum aufeinander abgestimmt (2, 17). Eine wichtige Rolle spielt die Epiphyse (Corpus pineale), die abhängig vom Hell-Dunkel-Wechsel das "Zeithormon" Melatonin ausschüttet. Hierzu kann sie, zumindest bei niederen Wirbeltieren, aber auch bei Sperlingen, Licht über eigene Photorezeptoren ohne den Umweg über das Auge registrieren und in Melatoninproduktion umsetzen (23).

Auch allergische Reaktionen und damit verknüpfte Parameter bei Mensch und Tier unterliegen bestimmten Biorhythmen. So zeigt jedes Allergen einer Standard-Testreihe eine charakteristische Jahresschwankung (38). Im Winter lassen sich Menschen leichter gegenüber DNCB sensibilisieren (13a, 38), Meerschweinchen gegenüber Neosalvarsan (38). Das mag aber unter Umständen auf veränderte Temperatur- und Klimaverhältnisse zurückzuführen sein.

Tagesrhythmen charakterisieren das Ausmaß von allergischen Sofortreaktionen des Menschen (z.B. Hausstaub-Milbe, Penicillin etc.) (63). Das abendliche Maximum koindiziert mit dem Maximum der Empfindlichkeit gegen Injektionen von Histamin. Es wird vermutet, daß hierbei die Tagesrhythmik der Corticosteroide eine Rolle spielt, deren Plasmagehalt abends ein Minimum aufweist (63).

In den folgenden Abbildungen sind zirkadiane Rhythmen von Corticosteroiden und Lymphozyten bei Mensch und Ratte dargestellt, wie sie aus der Arbeit von v. Mayersbach hervorgehen (56).

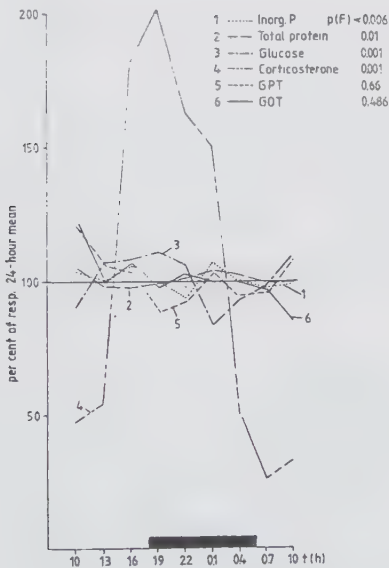


Abb. 17: Zirkadianrhythmische Verlaufsmuster einzelner Blutparameter bei der Ratte. Variation in % des jeweiligen 24 h Mittelwerts. p (F) ist die Signifikanz nach Varianzanalyse (F-Test). (56)

Da Ratten, Mäuse und Meerschweinchen nachtaktive Tiere sind (35, 62), zeigen sie Rhythmen, die zu denen des Menschen invers verlaufen (64). Bei nachtaktiven Tieren zeigt die Lymphozytenzahl gegen Mitternacht ein Minimum, während die Corticosteroidkonzentration ein Maximum erreicht hat. Mittags erreicht die Lymphozytenzahl ihren höchsten Wert, die Corticosteroidkonzentration ihr Minimum.

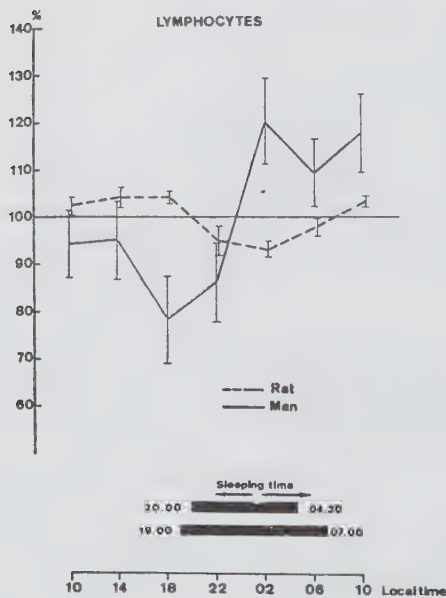


Abb. 18: Tagesgang der Lymphozytenzahlen im Blut des Menschen (durchgezogene Linie) und der Ratte (gestrichelt) (56).

Hiermit koinzidiert unsere Beobachtung, daß eine durch DNCB um 0 h hervorgerufene allergische Kontaktdermatitis schwach und verzögert einsetzt. Wird sie aber um 12 h mittags ausgelöst, in einer Phase verstärkter lymphozytärer Aktivität, setzt die Reaktion schnell und stark ein.

Auf Grund unserer Beobachtung erscheint es uns wichtig, darauf hinzuweisen, Versuchsanordnungen weiter zu standardisieren. Vergleiche zwischen einzelnen Ergebnissen sind nur dann sinnvoll, wenn biorhythmische Einflüsse berücksichtigt wurden.

2. Histamin und Histamin H_2 -Rezeptor-Antagonisten in der Entwicklung der allergischen Kontaktdermatitis

Histamin gehört zur Gruppe der biogenen Amine. Es wird von Mastzellen und basophilen Granulozyten synthetisiert und gespeichert und von diesen nach entsprechender Stimulierung freigesetzt. Die klassischen Effekte von Histamin sind: Erweiterung von Blutgefäßen, Erhöhung der Permeabilität von Kapillaren, Kontraktion glatter Muskulatur (Bronchialbaum, Gastro-Intestinaltrakt).

Ein weiterer Histamineffekt, die Anregung der Magensäuresekretion, konnte durch herkömmliche Antihistaminika nicht unterbunden werden. Deshalb wurde ein spezieller H_2 -Rezeptor im Magen postuliert, zusätzlich zu den hemmbaren H_1 -Rezeptoren (3). 1972 wurde mit Burimamid ein H -Antagonist gefunden, der spezifisch an den H_2 -Rezeptoren des Magens Histamin kompetitiv verdrängte, die H_1 -Rezeptoren aber nicht beeinflusste (11).

Der von uns verwendete Stoff Cimetidin ist eine neuere Entwicklung auf dem Gebiet der H_2 -Blocker ohne die hämatopoeti-

sche Toxizität der früheren Präparate (19) und wird zur Behandlung peptischer Ulzera verwendet (5).

H₂-Rezeptoren wurden auch in anderen Geweben und Zellen gefunden, z.B. neben H₁-Rezeptoren in Gefäßen (5), auf T-Lymphozyten, Mastzellen und basophilen Granulozyten. Daher wurde ein H₂-Rezeptorvermittler negativer Feedback-Mechanismus vorgeschlagen (46), der die anaphylaktische Histaminfreisetzung kontrollieren soll. Dafür spricht auch die Beobachtung, daß unter physiologischen Bedingungen die H₂-Rezeptoren an den Membranen der Mastzellen und basophilen Leukozyten einer vollständigen Ausschüttung des Histamins entgegenwirken. Sind diese Rezeptoren durch Histamin besetzt, wird eine weitere Ausstoßung durch Erhöhung des intrazellulären cAMP verhindert (65).

Dieser negative Feedback-Mechanismus wird durch H₂-Rezeptorenblocker unterbrochen (21). Auch Typ IV-Reaktionen (allergische Reaktionen vom Spättyp wie die von uns im Experiment verursachte Kontaktdermatitis) scheinen durch Histamin gehemmt zu werden (68). In vitro konnte gezeigt werden, daß Histamin Suppressor-T-Lymphozyten stimulierte (5), sowie direkt Effektorlymphozyten zu hemmen imstand war (4).

H₂-Rezeptorenblocker verhinderten diese protektive Wirkung des Histamins, H₁-Blocker hatten keinen Einfluß. An sensibilisierten Patienten mit Magen- und Duodenalulzera wurden während einer Cimetidinbehandlung deutlich stärkere Reaktionen gegen Recall-Antigene im Hauttest gefunden als zuvor und bei einer unbehandelten Kontrollgruppe (5).

Wir konnten zeigen, daß auch am Meerschweinchen eine verstärkte und verlängerte Hautreaktion auftritt, wenn die Auslösungsstelle mit Cimetidin unterspritzt wird.

Außer einer Unterdrückung des Histamineffekts an Suppressor-Lymphozyten durch Cimetidin kommt des weiteren eine Verminderung des Histamin-Gefäßeffekts in Betracht. Zumindest menschliche Hautblutgefäße haben H_1 - und H_2 -Rezeptoren. Cimetidin wie auch H_1 -Antihistaminika reduzieren die Gefäßreaktion auf Histamin (33). So wäre es möglich, daß dadurch eine verminderte "Antigen-Clearance" auftritt und auf diese Weise die Typ IV-Reaktion verstärkt wird (33). Diesem widerspricht, daß eine alleinige Therapie mit H_1 -Blockern keinen Einfluß zeigte (60).

Auf Grund dieser Untersuchungen kann man vermuten, daß Histamin möglicherweise eine physiologische Rolle bei der allergischen Hautreaktion vom Typ IV spielen könnte. Eine Beeinflussung durch Histamin H_2 -Antagonisten könnte zur Verstärkung der Immunreaktion gegenüber bestimmten Tumoren nützlich sein (5), ebenso aber auch manche Erkrankung verschlimmern. Ärzte sollten sich auch dieser (Neben-) Wirkung von Cimetidin bewußt sein.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. An 70 sensibilisierten Meerschweinchen wurden Epikutanteste mit DNCB vorgenommen. Es wurde untersucht, ob zirkadiane Rhythmen eine Auswirkung auf Auslösung und Verlauf der entstehenden allergischen Kontaktdermatitis zeigen. Durch intrakutane Injektion von Cimetidin in die Testareale wurde der Einfluß eines Histamin H_2 -Antagonisten auf die allergische Kontaktdermatitis untersucht. 48 Std. nach Reaktionsauslösung wurde der Histamingehalt der Teststellen bestimmt.
2. Wurde die Reaktionsauslösung 7 Tage nach der letzten Sensibilisierung vorgenommen, zeigten sich stärkere Hautreaktionen als bei Challenge 14 Tage nach der letzten Sensibilisierung.
3. Nach Cimetidinbehandlung zeigte sich eine um ca. 30 % stärkere Reaktion als bei Testarealen ohne Medikation.
4. Erfolgte die Auslösung um 0 Uhr, setzte die Reaktion verzögert ein und erreichte erst nach 48 Std. ihren Maximalwert. Bei Challenge um 12 Uhr setzte die Reaktion schneller ein, erreichte ihren Maximalwert nach 24 Std. und war nach 48 Std. wieder auf die Hälfte zurückgegangen. Die durch Cimetidin verstärkten Reaktionen zeigten dieses Ergebnis nicht so deutlich, ein ähnlicher Trend war aber festzustellen.
5. Sensibilisierung zu unterschiedlichen Tageszeiten ergab keine entscheidenden Hinweise auf eine veränderte Reaktionslage der Versuchstiere.
6. Der Histamingehalt von Haut aus dem Testgebiet war 48 Std. nach Challenge bei unbehandelten wie auch Cimetidinbehandelten Tieren noch doppelt so hoch, wie bei Kontrolltieren.

Dabei verschiebt sich der Hauthistaminspiegel 48 Std. nach Challenge etwa indirekt proportional zur Reaktionsstärke.

Ein Tagesprofil des Hauthistaminspiegels bei unbehandelten Tieren zeigte Konzentrationsmaxima um 6 Uhr, Minima um 18 Uhr.

ANHANG

1. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, die einen Beitrag zu meiner Arbeit geleistet haben:

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco, Direktor der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München, danke ich für die Arbeitsmöglichkeit in der Allergieabteilung der Klinik.

Bei Herrn Priv. Doz. Dr. J. Ring bedanke ich mich besonders für seine stets freundliche Beratung und wertvolle Unterstützung bei der Durchführung und Auswertung der Arbeit.

Meinem Kollegen Joseph Schmid danke ich für die fruchtbare Zusammenarbeit bei Planung, Durchführung und Auswertung der Versuche.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Frl. F. Beier, die mir bei der Versuchsdurchführung und den Laborarbeiten tatkräftige Unterstützung zuteil werden ließ.

Herrn K. Dumhard danke ich für die Betreuung der Tiere und seine Hilfsbereitschaft bei der Versuchsdurchführung.

\. Lebenslauf

Name	: Thomas Mayr
geb. am	: 25. September 1956
in	: Aindling (Kreis Aichach-Friedberg)
Staatsangehörigkeit	: deutsch
Eltern	: Vater: Max Mayr, Verwaltungsange- stellter Mutter: Elisabeth, geb. Hauk
Schulausbildung	: 1962 - 1966 Volksschule in Aichach 1966 - 1975 Gymnasium in Schroben- hausen (mathematisch-naturwissenschaftl. Zweig)
Abitur	: Juli 1975
Studium	: 11 Semester Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximilians-Universität in München 1975 - 1981
Abschluß	: Zahnmedizinisches Staatsexamen im Juni 1981, Bestallung am 4. August 1981
Familienstand	: Verheiratet seit 11. Juni 1982
Wohnort	: Corneliusstr. 3/III 8000 München 5

F. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ASCHOFF J., HOFFMANN K., POHL H., WEVER R.,
Re-entrainment of circadian rhythms after phase-shifts of
the Zeitgeber.
Chronobiologia (Milano) 2, 23 - 78 (1975)
- 2 ASCHOFF J.,
Zirkadiane Rhythmen des Menschen.
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 28, 1850-1856 (1978)
- 3 ASH ASF, SCHILE H. O.,
Receptors mediating some actions of histamine.
Br. J. Pharmacol. 27, 427 - 439 (1966)
- 4 ASKENASE P.,
Role of basophiles, mast cells and vasoamines in hypersen-
sitivity.
Progr. Allergy 23, 199 - 320 (1977)
- 5 AVELLA J., BINDER H.J., MADSEN J.F., ASKENASE P.W.,
Effect of histamine H₂-receptor antagonists on delayed
hypersensitivity.
The Lancet, March 25, 624 - 626 (1978)
- 6 BAER H., BOWSER R.T.,
Antibody production and development of contact skin sen-
sitivity in guinea pigs of various ages.
Science 140, 1211 - 1212 (1963)
- 7 BAER H., HOOTON M.,
The relationship between human and guinea pig sensitivity
to poison ivy and poison oak.
In: "Animal Models in Dermatology" (H.I. Maibach ed.) p.
53 - 55. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, New
York (1975)

- 8 BAER R., VOGT K., LAZARY S., GECZY C., WECK A.L. DE.,
Lymphokines. VI. Factors in human and other heterologous
sera inhibiting the migration of guinea pig macrophages.
Z. Immunforsch. Immunbiol. 155, 130 - 143 (1978)

- 9 BANDMANN H.-J., DOHN W.,
Die Epikutantestung.
J. F. Bergmann, München (1967)

- 10 BANDMANN H.-J., FREGERT S.,
Epikutantestung.
Springer, Berlin (1973)

- 11 BLACK JW, DUNCAN WAM, DURANT CJ, et al
Definition and antagonism of histamin H₂-receptors.
Nature 236, 385 - 390 (1972)

- 12 BLOCH B.,
Experimentelle Studien über das Wesen der Jodoformidiosynkra-
sie.
Ztschr. f. exper. Path. u. Therap. 9, 509 - 538 (1911)

- 13 BLOCH B., STEINER-WOURLISCH A.,
Die Sensibilisierung des Meerschweinchens gegen Primeln.
Arch. Derm. Syph. 162, 349 - 378 (1930)

- 13a BOGNER J.,
Dissertation in Vorbereitung

- 14 BUEHLER E. V.,
Delayed contact hypersensitivity in the guinea pig.
Arch. Dermatol. 91, 171 - 177 (1965)

- 15 BUEHLER E.V., GRIFFITH J. F.,
Experimental skin sensitization in the guinea pig and man.
In: "Animal Models in Dermatology" (H.I. Maibach ed.)

- p. 56 - 66, Churchill Livingstone, Edinburgh, London, New York (1975)
- 16 BÜNNING E.,
Die physiologische Uhr, zirkadiane Rhythmik und Bio-
chronometrie, 3. Auflage.
Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1977)
- 17 BÜNNING E.,
Evolution der zirkadianen Organisation.
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 28, 1811 - 1813 (1978)
- 18 BURG G., BRAUN-FALCO O.,
1-Chlor-2,4-dinitrobenzol (DNCB)-Salbe zur Sensibili-
sierung, Testung und Behandlung von Patienten mit
malignem Melanom.
Dtsch. Med. Wochenschr. 102, 210 - 211 (1977)
- 19 BURLAND W.L., SIMKINS M.A.,
Cimetidine: Proceedings of the second international
symposium on histamine H₂-receptor antagonists.
Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford (1977)
- 20 CHASE M.W.,
Immunological reactions mediated through cells.
In: "Nature and Significance of the Antibody Response"
(Pappenheimer ed.), p. 156 - 164. Columbia Univ. Press,
New York (1953)
- 21 COFFEY R., MIDDLETON E.,
Mechanism of actions of antiallergic drugs and relation-
ship of cyclic nucleotides to allergy.
In: Comprehensive Immunology, 3, Immunopharmacology (R.
Good, S. Day eds.) pp. 203 - 226, Plenum Medical Book
Company, New York and London (1977)

- 22 COOMBS R.R.A., GELL P.G.H.,
Classification of allergic reactions - responsible for
clinical hypersensitivity and disease.
In: "Clinical aspects of immunology" (Gell, Coombs and
Lachmann eds), 3rd ed., pp 761 - 781 (Blackwell, Ox-
ford) (1975)
- 23 DUBBELS R., SCHLOOT W.,
Das Zeit-Hormon Melatonin.
Bild der Wissenschaft 11, 70 - 79 (1982)
- 24 EISEN H.N., BELMAN S.,
Studies of hypersensitivity to low molecular weight sub-
stances.
J. Exp. Med. 98, 533 - 549 (1953)
- 25 FISHER A.A.,
Contact Dermatitis.
Lea & Febiger, Philadelphia (1973)
- 26 FREY J.R., WENK P.,
Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese des Kon-
taktekzems.
Dermatologica 112, 265 - 305 (1956)
- 27 FREY J., WENK P.,
Experimental studies on the pathogenesis of contact ec-
zema in the guinea pig.
Int. Arch. Allergy 11, 81 - 84 (1957)
- 28 FREY J.R., WECK A. L. DE, GELEICK H.,
Sensitization, immunological tolerance and desensiti-
zation of guinea pigs to Neoasphenamine.
Int. Arch. Allergy 30, 385 - 404 (1966)

- 29 FRISCH K. v.
Aus dem Leben der Bienen. 3. Auflage
Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1969)
- 30 GELL P. G. H., BENACERRAF B.,
Studies in hypersensitivity.
J. Exp. Med. 113, 571 - 585 (1961)
- 31 GERSHON R., ASKENASE P., GERSHON M.,
Requirement for vasoactive amines for production of
delayed-type hypersensitivity skin reactions.
J. Exp. Med. 142, 732 - 747 (1975)
- 32 GILLMANN, H.,
Einführung in das Thema: Zur klinischen Bedeutung bio-
logischer Rhythmen.
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 28, 1809 - 1810 (1978)
- 33 GREAVES M.W.,
H₂-receptor antagonists and delayed hypersensitivity.
The Lancet, I, 880 - 881 (1978)
- 34 GRIMM H.,
Gewebehistaminspiegel und Kinetik der Entzündungsre-
aktion in der Frühphase der Kontaktdermatitis am Meer-
schweinchen.
Dissertation, München (1981)
- 35 GRZIMEK B.,
Grzimeks Tierleben, Enzyklopädie des Tierreichs, 11. Band
Kindler, Zürich (1969)
- 36 HARMS V.,
Biomathematik, Statistik und Dokumentation.
Harms, Kiel (1979)

- 37 HILDEBRAND G.,
Biologische Rhythmen und Arbeit.
Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1976)
- 38 HJORTH N.,
Jahreszeitliche Schwankungen der Kontaktekzeme.
Hautarzt 26, 75 - 76 (1975)
- 39 JADASSOHN J.,
Zur Kenntnis der Arzneiexantheme. Bericht v. Congress
Dtsch. dermat. Ges., Graz, 1895
Arch. Derm. Syph. 34, 103 (1896)
- 40 KANEKO F.,
Macrophage migration inhibitory factor (MIF) in guinea
pigs and humans with delayed hypersensitivity.
J. Dermatol. 2, 115 - 126 (1975)
- 41 KLIGMAN A. M.,
The identification of contact allergens by human assay.
II. Factors influencing the induction and measurement
of allergic contact dermatitis.
J. Invest. Dermatol. 47, 375 - 392 (1966)
- 42 KNOP J., RIECHMANN R.,
Effect of *C. parvum* on the induction of contact sensi-
tivity.
Arch. Derm. Res. 267, 199 (1980)
- 43 KUSCHINSKY G., LÜLLMANN H.,
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie.
Thieme, Stuttgart (1978)
- 44 LANDI S., HALL J.W., SPARKES J.D.,
Evaluation of different methods for measuring and deter-
mining the size of tuberculin skin reactions in guinea
pigs.

- 45 LANDSTEINER K., JACOBS J.,
Studies on the sensitization of animals with simple
chemical compounds.
J. Exp. Med. 61, 643 - 656 (1935)
- 46 LICHTENSTEIN L. M.,
The role of H₂-receptors on the cells involved in
hypersensitivity reactions.
International Symposium on Histamine H₂-Receptor An-
tagonists, London, Oct 1 - 2, 1973 (C.J.Wood, M.A.
Simkins, eds.) Smith Kline & French Lab. Ltd, Welwyn
Garden City, England (1973)
- 47 LOWNEY E.D.,
Dermatologic implications of immunological unresponsive-
ness.
J. Invest. Dermatol. 54, 355 - 364 (1970)
- 48 MAGNUSSON B., HERSLE K.,
Patch test methods. I.A. comparative study of six dif-
ferent types of patch tests.
Acta der.-venereol. 45, 123 - 128 (1965)
- 49 MAGNUSSON B., KLIGMAN A. M.,
Allergic contact dermatitis in the guinea pig.
Identification of contact allergens.
Thomas, Springfield, Illinois (1970)
- 50 MAGNUSSON B.,
The relevance of results obtained with the guinea pig
maximation test.
In: "Animal Models in Dermatology" (H.I. Maibach ed.)
p. 76 - 83, Churchill Livingstone, Edinburgh, London,
New York (1975)
- 51 MAGUIRE H.C.,
Estimation of the allergenicity of prospective human

contact sensitizers in the guinea pig.

In: " Animal Models in Dermatology" (H.I. Maibach ed.)
p. 67 - 75, Churchill Livingstone, Edinburgh, London,
New York (1975)

- 52 MARGHESCU S., WOLFF H.H.,
Untersuchungsverfahren in Dermatologie und Venerologie.
Bergmann, München (1977)
- 53 MAURER T.,
Tierexperimentelle Methoden zur praediktiven Erfassung
sensibilisierender Eigenschaften von Kontaktallergenen.
Dissertation, Basel (1974)
- 54 MAYER R.L., SULZBERGER M.B.,
Zur Frage der jahreszeitlichen Schwankungen der Krank-
heiten. Der Einfluß der Kost auf experimentelle Sensi-
bilisierung.
Arch. Derm. Syph. (Berl.) 163, 245 (1931)
- 55 MAYERSBACH H.v.,
In: Zytoplasmatische, Organo- und Immunotherapie:
Makromolekulare Methoden
Selecta 13, 1206 - 1210 (27.3.1978)
- 56 MAYERSBACH H.V.,
Die Zeitstruktur des Organismus.
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 28, 1824 - 1835 (1978)
- 57 METTROP P.,
Stress and experimental contact dermatitis.
Dissertation, Amsterdam (1972)
- 58 MLETZKO H.C., MLETZKO J.,
Biorhythmik. Elementareinführung in die Chronobiologie.
Ziemsen, Wittenberg (1977)

- 59 PIRQUET VON C.,
Allergie.
Münch. Med. Wochenschr. 30, 1457 - 1458 (1906)
- 60 POLAK L.,
Immunological aspects of contact sensitivity.
An experimental study.
Monographs in Allergy, Vol. 15, Karger, Basel
(1980)
- 61 POLAK L.,
Vasoactive mediators in contact sensitivity.
In: "New Trends in Allergy" (J. Ring, G. Burg eds.)
pp. 187 - 199, Springer, Berlin, Heidelberg, New
York (1981)
- 62 RAELIGER H.,
Das Meerschweinchen.
Schaper, Hannover (1933)
- 63 REINBERG A., ZAGULA-MALLY Z., GHATA J.,
Circadian reactivity rhythm of human skin to house
dust, penicillin and histamine.
J. Allergy 44, 292 - 306 (1969)
- 64 RENSING L.,
Biologische Rhythmen und Regulationen.
Fischer, Stuttgart (1973)
- 65 RING J.,
Zyklisches Adenosin-3-5-Monophosphat (c-AMP) und
Allergie.
Hautarzt 29, 625 - 631 (1978)
- 66 RING J.,
Angewandte Allergologie.
MMW Medizin Verlag München (1982)

- 67 RITZ H.L., BUEHLER E.V.,
Planning, conduct and interpretation of guinea pig
sensitization patch tests.
In: "Current Concepts in Cutaneous Toxicity" (V.A.
Drill ed.) p. 25 - 40, Academic Press, New York (1980)
- 68 ROCKLIN R. E.,
Modulation of cellular immune responses in vivo and
in vitro by histamine receptor-bearing lymphocytes.
J. clin. Invest. 57, 1051 - 1058 (1976)
- 69 ROCKWELL E.M.,
Study of several factors influencing contact irrita-
tion and sensitization.
J. Invest. Dermatol. 24, 35 - 49 (1955)
- 70 ROUPE G., GRANERUS G.,
Increased urine histamine after challenge of contact
sensitivity in the mouse.
Acta Dermat.-venereol. 59, 301 - 304 (1979)
- 71 ROUPE G.,
Biological factors in contact sensitivity.
Studies in mouse and man.
Acta Dermat.-venereol. [Suppl.] 84, 1 - 35 (1979)
- 72 SALVIN S.B., SMITH R. F.,
The specificity of allergic reactions.
J. Exp. Med. 114, 185 - 194 (1961)
- 73 SALVIN S.B., GREGG M.B., SMITH R.F.,
Hypersensitivity in newborn guinea pigs.
J. Exp. Med. 115, 707 - 722 (1962)
- 74 SCHMID J.,
Experimentelle Untersuchungen zur Aussagekraft ver-

schiedener makroskopischer Ableseverfahren bei der DNCB-induzierten Kontaktdermatitis am Meerschweinchen.
Dissertation, München 1983

- 75 SIRAGANIAN R., BRODSKY M.,
Automated histamine analysis for in vitro allergy testing.
J. Allergy Clin. Immunol. 57, 525 - 540 (1976)
- 76 STORCK H.,
Das experimentelle Ekzem.
In: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten,
(O. Gans, G. Steigleder eds.) Band II/I, p. 114 -211
Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1962)
- 77 SULZBERGER M.B., OSER B.L.,
Influence of ascorbic acid on sensitization of guinea pigs to neoarsphenamin.
Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 32, 716 - 719 (1935)
- 78 TURK J.L.,
Delayed hypersensitivity.
In: "Frontiers of Biology", (E.A. Neuberger, E.L. Tatum eds.) Vol. 4, p. 4, North Holland Research, Amsterdam (1967)
- 79 ÜBERLA K.,
Biomathematik. Erläuterungen und Lernhilfen zum Gegenstandskatalog.
ISB, Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Statistik und Biomathematik der Universität München, München (1976)
- 80 UHR J.W., DANCIS J., NEUMANN C.G.,
Acute hypervitaminosis A in guinea pigs.
II. Effects on delayed-type hypersensitivity.

Proc. Soc. Exp. Biol & Med. 112, 287 - 291 (1963)

1. JACK A.L. DE, FREY J.R.,
Immunotolerance to simple chemicals.
Monogr. Allerg. 1, 138 - 140 (1966)

